E.coli Competent Cells
HST08 Premium

使 用 说 明 书

Takara Code : D9128

包 装 量

E. coli HST08 Premium Competent Cells	100 μl	× 10 支
Control DNA（pUC19，0.1 ng/μl）	10 μl	× 1 支

保 存：-80℃

制品说明

感受态细胞（Competent Cells）是一种具有摄入外源DNA能力的受容菌，它可以摄取外源的质粒DNA等。在进行基因重组实验时，使用感受态细胞的转化实验应用十分广泛。在制作基因文库、重组质粒体以及进行亚克隆实验时，特别是在目的基因含量十分低的情况时，使用高效的感受态细胞显得十分重要。

Takara公司在Hanahan方法的基础上进行了改良，制备出了高效的感受态细胞（都为EK1系列的宿主大肠杆菌）。

Genotype

F^-, *endA1*, *supE*44, *thi*-1, *recA*1, *relA*1, *gyrA*96, *phoA*, Φ80d*lacZ*ΔM15, Δ*(lacZYA-argF)* U169, Δ*(mrr-hsdRMS-mcrBC)*, Δ*mcrA*, λ^-

细胞种类

高效常用宿主*E.coli* HST08 Premium

HST08 Premium是*mrr, hsdRMS, mcrBC, mcrA*缺失的菌株，具有很高的转化效率，可用于甲基化质粒的制备，克隆效率比较高。10 kbp以上长片段的连接转化时，可与TaKaRa DNA Ligation Kit LONG（Takara Code：D6024）一起使用，效果很好。pUC系列质粒、BAC文库等转化都可以使用。可通过β-半乳糖苷酶的α-互补性，添加X-gal进行蓝白筛选，以挑选阳性克隆。

细胞浓度：1～2×10^9 Bacteria/ml

质量标准

1. 使用 1 ng 的质粒 DNA 进行转化时：
   100 μl *E. coli* HST08 Premium Competent Cells/ng pUC19 Plasmid进行转化时产生的菌落数 > 1×10^8 transformants/μg pUC19 Plasmid。
2. β-半乳糖苷酶的α-互补性确认：
   对 *E. coli* HST08 Premium Competent Cells 使用 pUC19 DNA 进行转化后，在含有 100 μg/ml 的 Ampicillin、40 μg/ml 的 X-Gal 的 L-琼脂平板培养基上，产生蓝色菌落。
3. 100 μl 的 *E. coli* HST08 Premium Competent Cells 在含有 100 μg/ml Ampicillin 的 L-琼脂平板培养基上过夜培养 40 hr 不产生菌落。

使用方法

质粒 DNA 的转化方法

1. 把感受态细胞置于冰中融化。
2. 把 100 μl 的感受态细胞移至灭菌处理的试管内。
3. 加入用于转化的 DNA（10 ng 以下）。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42℃放置 45～60 秒。
6. 冰中放置 2～3 分钟。
7. 加入 37℃预温好的 SOC 培养基，使终体积为 1 ml。
8. 37℃振荡培养 1 小时（160～225 rpm）。
9. 取适量涂布琼脂平板培养基。
10. 37℃过夜培养。

注意事项

1. 一定要用干冰运输。
2. 不立即使用的感受态细胞请在-80℃下保存（融化后的感受态细胞不能再冻结保存）。
3. 转化时请使用传热性能较好的试管。一般的 1.5 ml 微型离心管也可使用，但转化效率会有所下降（此时请在使用方法 5.的 42℃下放置 60 秒）。
4. 对 100 μl 的感受态细胞，用于转化的质粒 DNA 量请控制在 10 ng 以下，并保证 DNA 溶液的体积在 20 μl 以下。否则会影响转化效率。
5. 使用 SOC 培养基的地方也可使用 LB 培养基，但此时转化效率会有所下降。
6. 包装中附有 0.1 ng/μl 的 pUC19 DNA，供作对照实验使用。

备 注

SOC 培养基的组成

2%	Bacto tryptone
0.5%	Bacto yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	$MgSO_4$
10 mM	$MgCl_2$
20 mM	Glucose

V2011. 07